

УДК 612.1

DOI:10.54503/0514-7484-2022-61.1-91

Сравнительный анализ влияния соединений AV-3 и AV-11 на некоторые показатели периферической крови и цитогенетический статус крыс после ожога

**А.Г. Карапетян¹, А.М. Даллакян¹, Ж.Г. Петросян¹,
Н.К. Арутюнян¹, В.С. Григорян¹, Г.Н. Хачатрян²**

¹Национальный ожоговый центр
0054, Ереван, Давидашен, п/я 25,

²Ереванский государственный университет
0025, Ереван, ул. Алека Манукяна, 1

Ключевые слова: ожог, медьорганические комплексы, пролиферативная активность, хромосомные aberrации, плоидность клеток, количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина

Обширные глубокие ожоги вызывают возникновение комплекса патологических функциональных и морфологических изменений внутренних органов и систем организма. Ожоговая травма вызывает также глубокие изменения в гематологических показателях. При протекании крови через ткани в период ожога происходит тепловое повреждение и деструкция эритроцитов с выходом свободного гемоглобина в плазму [5–7]. Ожоговая болезнь также вызывает выраженную лейкоцитарную реакцию, которая описана многими исследователями в клинике и эксперименте [3,4].

Для заживления тканей при ожоге используются препараты, которые обладают противовоспалительными, болеутоляющими и регенерирующими свойствами [2]. В этой связи особый интерес представляют металлоорганические комплексы, основанные на меди. Биологическая роль меди многообразна. Этот элемент входит в состав жизненно важных ферментов, выполняющих в организме сложные функции. Медь нормализует работу эндокринной системы, активирует инсулин.

Биогенная роль меди заключается в участии в процессах кроветворения. Микроэлемент участвует в синтезе гемоглобина, осуществляющего перенос кислорода в организме, повышает скорость кровообращения. Медь участвует в синтезе коллагена и эластина, поддерживает тургор кожи. Без нее соединительная ткань теряет упругость, а кости и хрящи – эластичность. Важна медь и для нервной ткани, она входит в состав миелиновых оболочек нервных клеток, изолирующих нервные волокна. Медь

активно участвует в метаболизме углеводов: активирует окисление глюкозы, замедляет разрушение гликогена в печени. Для иммунной системы медь также имеет важное значение. Металл нейтрализует токсины микроорганизмов, пролонгирует действие антибактериальных препаратов, уменьшает воспалительные реакции.

Согласно литературным источникам и нашим ранним исследованиям [1,8–10], подобные комплексы, основанные на меди, обладают низкой токсичностью и выраженными радиозащитными свойствами.

С целью выявления возможного положительного действия на ожоги нами были исследованы соединения медьорганических комплексов с условными обозначениями AV-3 и AV-11, синтезированные в Ереванском государственном университете.

Материал и методы

Нами для исследования возможного терапевтического действия при термических ожогах были использованы AV-3 и AV-11. Эксперименты проводились на половозрелых, белых, беспородных крысах массой 180г.

Животные были разделены на 4 группы:

I – только с термическим (чистым) ожогом (контрольная группа),

II – термический ожог с инъекцией AV-3,

III – термический ожог с инъекцией AV-11,

IV – интактные животные (без ожога).

Животным на эпилированную поверхность кожи в области спины наносился термический ожог III степени, 30% поверхности тела. Через 30 мин после нанесенного ожога животным II и III групп внутривентрально вводились комплексы AV-3 и AV-11 дозой 40мг/кг, растворенные в DMSO. Контрольную группу составляли животные с чистым ожогом. Инъекция проводилась через каждые двое суток в течение 14 дней до начала отторжения струпа раны.

Активность этих соединений оценивалась по выживаемости, средней продолжительности жизни, показывающей динамику гибели подопытных крыс в течение 30-дневного мониторинга.

Проводился визуальный мониторинг ожоговой раны. Наблюдения велись в течение 60 дней, когда раны полностью заживут и покроются шерстью.

Из хвостовой вены в определенные сроки (на 3,7,14, 21 и 30-е сутки) забиралась кровь для гематологического анализа. Определялись следующие показатели: время свертываемости крови (ВСК); число лейкоцитов (по классической методике с помощью камеры Горяева); уровень гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов.

Материалом для цитогенетического исследования является костный мозг из бедренной кости животных. По методике Ford-Wollam определя-

лись: митотический индекс (МИ) в %, хромосомные aberrации (ХА) в % и полиплоидные клетки (ПК) в %.

Результаты и обсуждение

Гематологические показатели анализировались в динамике в течение всего срока эксперимента (на 3,7,14,21 и 30-е сутки) при чистом ожоге и инъекциях AV-3 и AV-11. Результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1
Показатели крови у крыс при чистом ожоге, инъекции AV-3 и AV-11

Показатели	Сутки	Чистый ожог (контрольная группа)	AV-3	AV-11
ВСК (сек)	3	264,0±12,88	282,0±22,45	362±6,63*
	7	215,0±14,32	349,6±17,63*	273,3±17,64*
	14	225,6±13,09	366±61,77*	195,0±15,0
	21	277,8±15,77	389,2±23,39*	270,0±30,0
	30	330,0±18,44	284±21,59	225,0
Лейкоциты (норма: 8,6±0,68 ×10 ⁹ /л)	3	14,72±0,81	11,480±0,86*	10,64±1,11*
	7	16,92±0,618	13,520±1,35*	15,43±1,43
	14	11,320±0,89	12,520±1,74	10,000±2,00
	21	13,64±0,67	9,240±0,85*	8,300±0,900*
	30	15,96±0,46	12,440±1,094*	6,00
Тромбоциты (N/μl)	3	627000,0±10793,52	482000±24627,22*	459000±20396,08*
	7	681400,0±62572,38	642000±58770,74	688333,3±26822,46
	14	609000,0±52115,26	446600±46749,99*	685000±55000
	21	590000±37524,98	484000±40354,68	415000±15000*
	30	571000±22934,69	569000±36069,38	700000
Эритроциты (норма: 6,2±0,35 ×10 ¹² /л)	3	5,92±0,13	5,34±0,29	4,64±0,15*
	7	3,13±0,1	4,89±0,35*	4,15±0,24*
	14	6,56±0,18	4,83±0,32*	5,23±0,9
	21	6,47±1,04	5,88±0,43	4,88±0,39
	30	6,38±1,9	6,22±0,34	6,76
Гемоглобин (норма: 158,0±14,6 г/л)	3	134,6±6,06	137,0±2,0	136,2±1,62
	7	136,5±5,5	132,8±0,97	129,7±0,88
	14	163,3±10,13	133,2±1,46*	136,5±1,5*
	21	162,3±5,95	138,6±1,17*	138,0±2,0*
	30	161,3±1,76	141,4±1,17*	140,0

* p<0,05

Как видно из табл. 1, ожог вызывает существенное изменение количества лейкоцитов в крови животных. Так, на 3-7-е сутки после травмы во всех группах отмечается увеличение числа лейкоцитов, что свидетельствует о протекании репаративных процессов. Наиболее высокие пока-

затели получены на 7-е сутки исследования, так как в эти сроки к лейкоцитарной реакции организма присоединяется инфекция. И если у крыс из группы с инъекцией AV-11 в конце исследований наблюдается лейкопения, то в группах с инъекциями AV-3 наблюдается тенденция к нормализации. Почти на всем протяжении эксперимента (на 3,7,14,21 и 30-е сутки) отмечается достоверное отличие уровня лейкоцитов у контрольной группы от группы с инъекцией комплекса AV-3. Наблюдалось также достоверное отличие (увеличение) ВСК в контрольной группе по сравнению с группой с инъекцией AV-3, что свидетельствует о благотворном влиянии соединения AV-3.

Ожоговая травма, приводящая к угнетению гемопоэза, является причиной выраженной эритропении и анемии. Уровень эритроцитов и гемоглобина в ранние сроки (3-и,7-е сутки) исследования (и при чистом ожоге и при введении AV-3 и AV-11) были значительно ниже величин, соответствующих нормам. Как видно из таблицы, на последних сроках наблюдения (21-е и 30-е сутки) отмечалась нормализация числа эритроцитов. Отмечалось достоверное отличие этих показателей у контрольной группы (чистый ожог) и группы с введенным соединением AV-3 (14, 21 и 30-е сутки), что свидетельствует о благотворном влиянии этого комплекса.

Это заключение подтверждается также при расчете выживаемости и средней продолжительности жизни крыс. Эксперименты по выживаемости ставились на животных, распределенных на 3 группы: чистый ожог (контрольная группа), вторую и третью группы составили животные, получившие соединения AV-3 и AV-11 после ожога. Эксперимент, поставленный для определения выживаемости и средней продолжительности жизни, показал, что в группе крыс с введенным комплексом AV-3 показатели значительно лучше (100% выживаемость), чем у животных только с ожогами (контроль) и с введенным соединением AV-11, что отражено в табл. 2.

Таблица 2

Выживаемость и средняя продолжительность жизни крыс

Группа	Выживаемость, %	Средняя продолжительность жизни
Контроль	57	20,57
AV-3	100	30
AV-11	20	13,8

Согласно уравнениям и кривым логарифмической регрессии, описывающим динамику выживаемости, приведенным на рис. 1 (где x – количество дней, пройденных со дня начала эксперимента), наблюдается понижение процента выживаемости в течение времени в контрольной группе и группе с инъекцией AV-11 в отличие от группы с введенным

комплексом AV-3, где наблюдается 100% выживаемость до конца исследований.

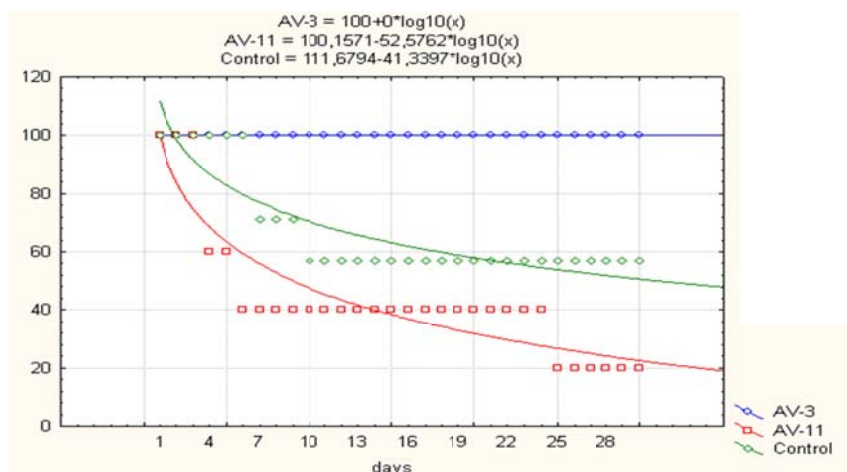


Рис. 1. Уравнения и кривые логарифмической регрессии, описывающие динамику выживаемости контрольной группы (control) и групп с инъекциями AV-3 и AV-11 после ожога

На 60-е сутки после полного заживления раны визуальный мониторинг показал, что регенерация эпителия, обрастание шерстью активнее отмечались в группе с внутрибрюшинной инъекцией AV-3, чем в группах контроля и с инъекцией AV-11.

На 30-е сутки после нанесения термического ожога и введения соединений AV-3 и AV-11 был проведен цитогенетический анализ. Анализ кариотипа показал, что все цитогенетические показатели в 3 группах подопытных животных статистически достоверно разнятся с данными кариотипа интактных особей. При сравнении цитогенетических показателей обеих групп крыс с введенными хелатами с данными контроля отмечалась небольшая вариабельность параметров без статистически значимых сдвигов, что отражено в табл. 3.

Таблица 3
Изменение цитогенетических показателей у 3 групп после ожога

Показатели	Интактная группа	Контроль (ч.ожог)	Ожог+AV-3	Ожог+AV-11
МИ, ‰	20,1±2,8	12,8±1,8	17,8±1,9	13,2±0,42*
ХА, ‰	3,0±0,22	4,2±0,48	3,8±0,4	4,1±0,48
ПК, ‰	0	3,9±0,36	2,1±0,22	2,9±0,36

* $p < 0,05$

Как видно из табл. 2, при сравнении цитогенетических параметров последнего срока эксперимента 2 опытных групп с контрольной наблюдалось достоверное снижение уровня полиплоидных клеток у группы с инъекцией AV-3 ($p < 0,01$). При сравнении 3 экспериментальных групп с интактной группой отмечалась тенденция к угнетению митотического индекса. В контрольной и AV-11 группах этот показатель все еще значительно ниже нормального, а в группе AV-3 он ближе к норме (разница между интактной группой и группой ожог + AV-3 небольшая). Аберрантность хромосом, в основном в виде разрывов, в контрольной и AV-11 группах значительно выше нормы, а в группе AV-3 этот показатель не превышает статистически значимого уровня.

Цитогенетические нарушения в процессе ожоговой травмы приведены на рис. 2.

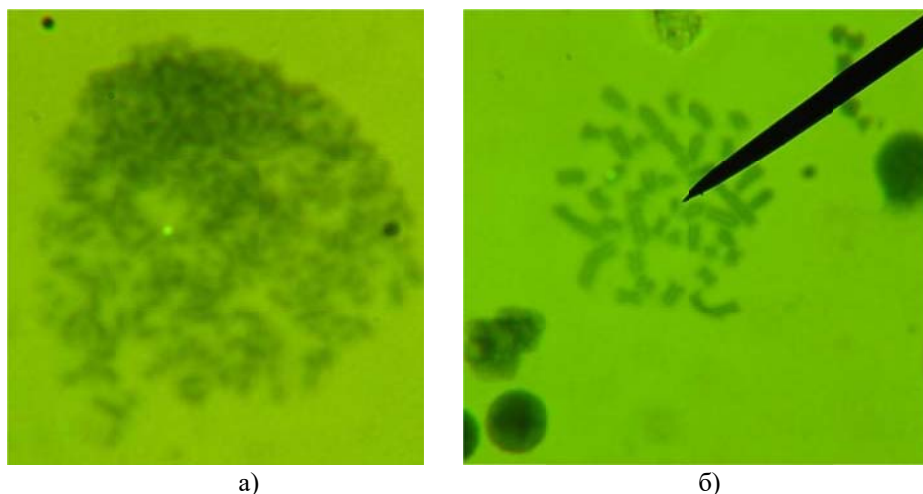


Рис. 2. Полиплоидная клетка (а) и хромосомные aberrации в виде двойного фрагмента (б) через 30 дней после термического ожога в костномозговых клетках крыс

Суммируя цитогенетические показатели и критерии визуального мониторинга, а также отсутствие гибели животных в группе с инъекцией металлоорганического комплекса AV-3, можно заключить, что данное соединение активирует репаративные процессы, улучшая цитогенетический статус подопытных крыс. Он, в частности, повышает пролиферацию костномозговых клеток, вследствие чего улучшается гемопоэз обожженных животных.

Таким образом, основываясь на результатах выживаемости, средней продолжительности жизни, цитогенетических и гематологических показателей, можно заключить, что исследуемый комплекс AV-3 проявляет ощутимые заживляющие свойства. Комплекс AV-3 проявил по всем наблюдаемым критериям благотворное воздействие на подопытных животных.

В ранние сроки анализов (3-и и 7-е сутки) оба соединения смягчают поражающее действие ожоговой травмы, но на последних сроках наблюдения (14, 21 и 30-е сутки) у группы с инъекцией AV-3 многие показатели достоверно отличались от контрольных значений (чистый ожог) и приблизились к данным нормы.

Исследуемые Су-комплексы эффективно способствуют репаративным процессам в костномозговых клетках, улучшая цитогенетический статус подопытных крыс. AV-3, в частности, повышает пролиферацию костномозговых клеток, вследствие чего улучшается гемопоэз обожженных животных. Результаты данного, пока предварительного, исследования требуют продолжения поиска новых эффективных заживляющих средств для ожоговых поверхностей.

Поступила 12.11.21

AV-3 և AV-11 միացությունների ազդեցության համեմատական վերլուծությունը առնետների բջջագենետիկ վիճակի և պերիֆերիկ արյան որոշ ցուցանիշների վրա այրվածքից հետո

**Ա.Գ. Կարապետյան, Ա.Մ. Դավաթյան, Ժ.Հ. Պետրոսյան,
Ն.Կ. Հարությունյան, Վ.Ս. Գրիգորյան, Հ.Ն. Խաչատրյան**

Այրվածքների դեպքում հյուսվածքները բուժելու համար օգտագործվում են դեղամիջոցներ, որոնք ունեն հակաբորբոքային, ցավազրկող և վերականգնող հատկություններ: Այս առումով առանձնահատուկ հետաքրքրություն են ներկայացնում պղնձի վրա հիմնված օրգանամետաղական համալիրները:

Այրվածքների վրա հնարավոր դրական ազդեցությունը բացահայտելու համար մենք ուսումնասիրել ենք AV-3 և AV-11 պղնձի համալիրները: Այս միացությունների ակտիվությունը գնահատվել է ըստ ապրելունակության և կյանքի միջին տևողության: Որոշվել են նաև արյունաբանական ցուցանիշները՝ արյան մակարդման ժամանակը, լեյկոցիտների, հեմոգլոբինի, էրիթրոցիտների, թրոմբոցիտների մակարդակը: Բջջագենետիկական հետազոտությունների համար որոշվել են միտոտիկ ինդեքսը, քրոմոսոմային շեղումները և պոլիպլոիդ բջիջների քանակը:

Գրեթե ողջ փորձի ընթացքում AV-3 համալիրով ներարկված խմբերի և ստուգիչ խմբի (այրվածք) միջև լեյկոցիտների մակարդակի զգալի տարբերություն կար: Հսկիչ խմբում նկատվել է նաև արյան մակարդեղիության զգալի աճ՝ համեմատած AV-3-ով ներարկված խմբի

հետ, ինչը ցույց է տալիս AV-3 միացության բարենպաստ ազդեցությունը:

Էրիթրոցիտների և հեմոգլոբինի մակարդակը հետազոտության վաղ փուլերում այրվածք և AV-3-ի ու AV-11-ի ներարկում խմբերում զգալիորեն ցածր է եղել նորմայից: Դիտարկումների վերջում նշվել է էրիթրոցիտների քանակի նորմալացում: Ստուգիչ և AV-3 խմբերում այս ցուցանիշների միջև զգալի տարբերություն կար, ինչը ցույց է տալիս այս համալիրի բարենպաստ ազդեցությունը: Վերքի ամբողջական ապաքինումից հետո տեսողական մոնիթորինգը ցույց է տվել, որ էպիթելի վերականգնումը և մազերի աճն ավելի ակտիվ են եղել AV-3 ներարկման խմբում, քան ստուգիչ և AV-11 ներարկման խմբերում:

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ AV-3 համալիրն ունի շոշափելի բուժիչ հատկություններ: Այս միացությունն ակտիվացնում է վերականգնողական գործընթացները ոսկրածուծի բջիջներում՝ բարելավելով փորձարարական առնետների բջջազենետիկական կարգավիճակը:

Վերլուծության վաղ փուլերում երկու միացություններն էլ մեղմացնում են այրվածքի վնասվածքի վնասակար ազդեցությունը, սակայն AV-3 ներարկումով խմբում դիտարկման վերջին ժամանակահատվածներում բազմաթիվ ցուցանիշներ զգալիորեն տարբերվել են հսկիչ արժեքներից և մոտեցել են նորմային:

AV-3-ը և AV-11-ը բարձրացնում են ոսկրածուծի բջիջների պրոլիֆերացիան, ինչը հանգեցնում է այրված կենդանիների արյունաստեղծման բարելավման: Նախնական ուսումնասիրության արդյունքները պահանջում են այրված մակերեսների արդյունավետ բուժիչ միջոցների շարունակական որոնում:

Comparative Analysis of the Influence of AV-3 and AV-11 Compounds on Some Parameters of Peripheral Blood and Cytogenetic Status of Rats after the Burn

A. G. Karapetyan, A. M. Dallakyan, Zh. H. Petrosyan, N. K. Harutyunyan, V. S. Grigoryan, H. N. Khachatryan

In this regard, organometallic complexes based on copper are of particular interest. In case of burns, medicines with anti-inflammatory, analgesic and restorative properties are used to treat the tissues. In this regard, copper-based organometallic complexes are of particular interest.

To identify the possible positive effects on burns, we studied the AV-3 and AV-11 copper complexes. The activity of these compounds was assessed

by viability and average life expectancy. Hematological parameters such as blood clotting time, the level of leukocytes, hemoglobin, erythrocytes and platelets were also determined. Mitotic index, chromosomal aberrations, and the amount of polyploid cells were determined for cell genetic studies.

Throughout most of the experiment, there was a significant difference in the level of leukocytes between the groups injected with AV-3 complex and control group (burn). There was also a significant increase in MCV in the control group compared with the group injected with AV-3, which indicates a beneficial effect of the AV-3 compound.

The level of erythrocytes and hemoglobin in the early stages of the study with a clean burn and with AV-3 and AV-11 introduction were significantly below the norm. At the end of observations, normalization of the number of erythrocytes was noted. There was a significant difference between these indicators in the control group and the group administered with compound AV-3 which indicates the beneficial effect of this complex. After complete wound healing, visual monitoring showed that epithelial regeneration and hair growth were more active in the AV-3 injection group than in the control groups and AV-11 injected groups.

Research results have shown that the AV-3 complex exhibits tangible healing properties. This compound activates reparative processes in bone marrow cells, improving the cytogenetic status of experimental rats.

In the early stages of the analysis, both compounds soften the damaging effect of burn injury, but in the last periods of observation in the group with AV-3 injection, many indicators significantly differed from the control values and approached the normal data.

Cu-complexes AV-3 and AV-11 increase the proliferation of bone marrow cells, which leads to improved hematopoiesis in burnt animals. The results of this preliminary study require an ongoing search for effective remedies for burn surfaces.

Литература

1. Баджиян С.А., Малакян М.Г., Егиазарян Д.Э., Даллакян А.М., Вардеванян Л.А. Сравнительное изучение радиозащитной активности комплексов меди с шиффовыми основаниями, производными L-тирозина и L-фенилаланина. Актуальные проблемы радиационной безопасности, Ереван, 2014, с.61-64.
2. Буляян С.А. Действие мази Дермафен на регенераторные процессы кожи белых крыс после экспериментального термического ожога. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2015, 10-2, с. 268-272.
3. Гублер Е.В., Хребтович В.Н., Суббота А.Г. Термические ожоги и ожоговая болезнь. В кн.: Моделирования заболеваний. Под ред. С.В. Андреева. М., 1972, с.46-59.
4. Зиновьев Е.В. и др. Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости, 2006, 3, с.73-74.
5. Логинов Л.П., Смирнов С.В., Хватов В.Б. и др. Гемотрансфузии у обожженных в процессе восстановления кожного покрова. Сб. науч. трудов II съезда комбустиологов России, г. Москва, 2008, с.108-109.

6. *Муразян Р.И., Илюхин А.В.* О деструкции эритроцитов при обширных ожогах. Клини. мед., 1971, 6, с. 44–49.
7. *Слесаренко С.В.* Анемия при ожоговой болезни и возможности ее коррекции. Вестник хирургии им. И.И. Грекова, 1997, т.156, 4, с. 37–41.
8. *Bhirud R. G., Srivastava T. S.* Superoxide dismutase activity of Cu(II)2(aspirinate)4 and its adducts with nitrogen and oxygen donors. Inorganica Chimica Acta, 1990, v.173, 1, p.121-125.
9. *Pogosyan A.S., Dallakyan A.M., Karapetyan A.G., Hovhannesyan A.N.* Role and probable mechanisms of polyploidy cells formation in irradiated organism. International Conference Radiation Safety challenges in the 21st Century. Proceedings, Yerevan, 2012, p.85-86.
10. *Riley D.P.* Functional mimics of superoxide dismutase enzymes as therapeutic agents, Chem. Rev., 1999, 99, pp.2573–2588.